



血管拡張薬ヒドラジンのFAD依存性酵素に対する 阻害作用に関する研究

著者	川? 祥平
発行年	2017
学位授与大学	筑波大学 (University of Tsukuba)
学位授与年度	2016
報告番号	12102甲第8153号
URL	http://hdl.handle.net/2241/00147842

氏名	川崎 祥平
学位の種類	博 士（農学）
学位記番号	博 甲 第 8153 号
学位授与年月日	平成 29年 3月 24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	生命環境科学研究科
学位論文題目	血管拡張薬ヒドララジンの FAD 依存性酵素に対する阻害作用に関する研究
主査	筑波大学教授 農学博士 深水 昭吉
副査	筑波大学准教授 博士（薬学） 木村 圭志
副査	筑波大学講師 博士（学術） 加香孝一郎
副査	筑波大学講師 博士（農学） 石田 純治

論 文 の 要 旨

ヒドララジン（Hdz）は血管拡張薬として古くから高血圧の治療に用いられている一方で、頭痛や悪心、嘔吐、頻脈などの副作用が知られている。しかし、降圧作用の機序は未解明であり、副作用の機構も詳細には分かっていない。まず、審査対象論文では、妊娠高血圧モデルマウス（PAH マウス）を用いて、Hdz 投与特異的に血圧の正常化と連動して量的変化を示す物質の探索を目的とした研究について記述している。著者は、薬剤非投与と Hdz 投与の条件下で、妊娠 19 日目の PAH マウスから血漿を採血し、HPLC で分析したところ、Hdz 投与で増加するピークを検出した。そこで本物質を単離し、MALDI-QIT-TOF/MS 分析による分子量測定及び構造解析を行った結果、本物質がヒスタミンの代謝産物である *tele*-メチルヒスタミン（*t*HM）を同定した。ここで著者は、Hdz の投与ではヒスタミンの明らかな減少が認められなかったことから、*t*HM の増加は生成の亢進ではなく、代謝の抑制に起因するという仮説を立て、*t*HM の代謝酵素であるモノアミンオキシダーゼ（MAO-B）の活性に対して、既知の MAO-A/B の阻害剤であるトラニルシプロミン（TCP）をコントロールに酵素反応阻害実験を行い、Hdz が *t*HM を基質とした MAO-B 反応を *in vitro* で抑制することを明らかにした。この結果は、PAH マウスへの Hdz 投与による *t*HM の増加が、*in vivo* での MAO-B 活性阻害に起因する可能性を示唆している。このことは Hdz の投与により同じく MAO-B の基質であるドーパミンが増加し、神経抑制型のドーパミン受容体 D2 の作用を介して血圧降下が生じる可能性や、反対にカテコールアミンなどの体内濃度が過剰になることで、悪心等の副作用を引き起こす可能性を想起させることから、著者は Hdz の降圧作用もしくはその副作用が、MAO-B を介するものなのか否かについてさらなる検討の余地があ

るとしている。

MAOは補酵素としてFADを要求する酸化還元酵素であるが、同じFAD依存性酵素としてヒストンリジン特異的脱メチル化酵素1 (LSD1) は、がんなどの病態への関与が知られており、LSD1阻害が抗がん作用を有することが示唆されている。興味深いことに、MAO-A/B阻害剤であるTCPによって、LSD1による基質タンパク質のメチル化リジン残基の酸化的脱メチル化反応が阻害されることが報告されている。そこで著者は、HdzもLSD1の活性を阻害しているのではないかと仮説を立て、合成ヒストンペプチドを基質に*in vitro*での脱メチル化活性を測定した結果、Hdz存在下でLSD1の活性が減少することを明らかにした。以上のことから著者は、HdzがLSD1による内在性タンパク質の脱メチル化活性も同様に阻害する可能性を示唆した。本研究で得られたこれらの結果は、Hdzの多様な作用を分子レベルで理解する上で重要な知見をもたらすものと考えられる。

審 査 の 要 旨

これまで、妊娠高血圧症候群の様々な研究が進められているが、病態の発症や進展メカニズムは明らかになっておらず、対症療法的に薬剤が用いられているのが現状である。一方、降圧薬の多くは妊娠中の投薬が禁忌とされている中で、Hdzは比較的安全な第一選択薬として広く本疾患の治療に使用されているが、その降圧作用や頭痛・悪心等の副作用の発現メカニズムの詳細については不明である。今回著者は、Hdzを投与したPAHマウスの血中に、ヒスタミンの代謝産物であるtHMが増加することを発見し、*in vitro*の実験系を用いて、HdzがMAO-BによるtHMの代謝を阻害することを見出した。この事実は新規の知見であり、Hdzが*in vivo*でもアミン代謝に対して阻害作用を示す可能性を示唆している。さらに、Hdzと同様にMAO-Bを阻害するTCPが、ヒストン修飾酵素LSD1の阻害剤として、エピジェネティックの研究分野で注目されている。MAOもLSD1もFAD依存性酵素であることから、LSD1の酵素活性に対するHdzの阻害効果についても検討を加え、*in vitro*でHdzがLSD1によるメチル化リジンの酸化的脱メチル化反応を阻害することを明らかにした。

本論文では、Hdzによる血圧降下作用メカニズムの直接的な解明には至らなかったものの、Hdzの作用機序としてFAD依存性酵素の阻害という新たな側面を見出したことは、近年加速しつつある既存の薬剤の新規効能を積極的に探索しようとするドラッグリポジショニングの観点からも大変意義深い。本研究の成果が、今後の抗がん剤の開発等のエピジェネティック制御の研究や、高血圧などの生活習慣病の新たな治療方法の開発につながると期待される。

平成29年1月16日、学位論文審査委員会において、審査委員全員の出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有する者として認める。